

**PENENTUAN KADAR FENOLIK DAN FLAVONOID TOTAL, UJI
ANTIOKSIDAN, DAN ANALISIS SENYAWA KIMIA SECARA LC-MS
FRAKSI ETIL ASETAT BUAH TEMBESU (*Fagraea fragrans* Roxb.)**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Bidang Studi Kimia**



OLEH:
AGUNG PRATAMA
08031281924120

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2023

HALAMAN PENGESAHAN

PENENTUAN KADAR FENOLIK DAN FLAVONOID TOTAL, UJI ANTIOKSIDAN, DAN ANALISIS SENYAWA KIMIA SECARA LC-MS FRAKSI ETIL ASETAT BUAH TEMBESU (*Fagraea fragrans Roxb.*)

SKRIPSI

Diajukan Untuk Melengkapi Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Bidang Studi Kimia

AGUNG PRATAMA

08031281924120

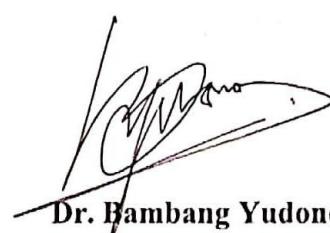
Indralaya, 31 Maret 2023

Pembimbing I



Drs. Dasril Basir, M. Si.
NIP. 195810091986031005

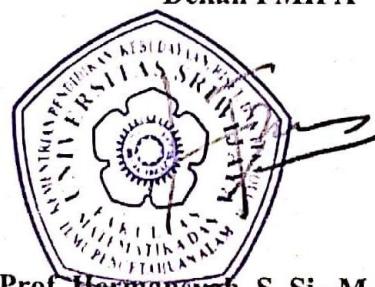
Pembimbing II



Dr. Bambang Yudono, M. Sc.
NIP. 196807231994032003

Mengetahui,

Dekan FMIPA



Prof. Hermansyah, S. Si., M. Si., Ph. D.
NIP. 197111191997021001

HALAMAN PERSETUJUAN

Makalah Seminar Hasil Agung Pratama (08031281924120) dengan judul "Penentuan Kadar Frnolik dan Falvonoid Total, Uji Antioksidan, dan Analisis Senyawa Kimia Secara LC-MS Fraksi Etil Asetat Buah Tembesu (*Fagraea fragrans Roxb.*)" telah diseminarkan di hadapan Tim Penguji Seminar Hasil Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 22 Februari 2023 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai masukan yang telah diberikan.

Indralaya, 31 Maret 2023

Ketua:

1. Dr. Nurlisa Hidayati, M. Si.
NIP. 197211092000032001

Sekretaris:

1. Nova Yuliasari, M. Si.
NIP. 197307261999032001

Pembimbing:

1. Drs. Dasril Basir, M. Si.
NIP. 195810091986031005
2. Dr. Bambang Yudono, M. Sc.
NIP. 196807231994032003

Penguji:

1. Dr. Eliza, M. Si.
NIP. 196407291991022001
2. Dra. Julinar, M. Si.
NIP. 196507251993032002

Mengetahui,



PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Agung Pratama
NIM : 08031281924120
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Kimia

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain. Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain, baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Indralaya, 31 Maret 2023

Pervis



Agung Pratama

NIM. 08031281924120

**HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK
KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Agung Pratama
NIM : 08031281924120
Fakultas/Jurusan : MIPA/Kimia
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya "Penentuan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total, Uji Antioksidan, dan Analisis Senyawa Kimia Secara LC-MS Fraksi Etil Asetat Buah Tembesu (*Fagraea fragrans Roxb.*)". Dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini, Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih, mengedit/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, 31 Maret 2023

Penulis



Agung Pratama

NIM. 08031281924120

DETERMINATION OF TOTAL PHENOLIC AND FLAVONOID CONTENTS, ANTIOXIDANT ACTIVITY, AND LC-MS ANALYSIS OF THE ETHYL ACETATE FRACTION OF TEMBESU FRUITS (*Fagraea fragrans* Roxb.)

Agung Pratama ; supervised by Drs. Dasril Basir, M. Si. and Dr. Bambang Yudono, M. Sc.

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Sriwijaya

xviii + 65 pages, 6 tables, 27 pictures, 9 attachments

SUMMARY

Tembesu (*Fagraea fragrans* Roxb.) is a perennial plant commonly found in Sumatera island. This plant is widely used as a construction material and traditional medicine. Several studies reported that *F. fragrans* has various activities such as antioxidant, anticancer, anti-inflammatory, and antimalarial indicating the presence of active compounds in this plant, such as phenolics and flavonoids. Hence, This study aims to estimate the total phenolic and flavonoid content, determine the antioxidant activity, and identify the compounds with LC-MS (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry) of the ethyl acetate fraction of *F. fragrans* fruits. The research was started by macerating *F. fragrans* fruits using methanol as a solvent, followed by fractionation using *n*-hexane and ethyl acetate. The total phenolic content of the ethyl acetate fraction was then determined using the Folin-Ciocalteu reagent, while the total flavonoid content was determined using AlCl₃ as a reagent. Antioxidant activity assay was carried out using DPPH (1,1-diphenyl-2-pikrylhidrazyl) as a free radical. The ethyl acetate fraction was then analyzed using LC-MS to identify the compounds contained in the fraction.

The results showed that the ethyl acetate fraction of *F. fragrans* fruits had a total phenolic content of 29.34764 mgGAE/g extract, and a total flavonoid content of 4.50496 mgQE/g extract. The ethyl acetate fraction of *F. fragrans* fruits has moderate antioxidant activity with an IC₅₀ value of 357.148 mg/L. The fractions were further analyzed using LC-MS, and four major peaks were identified at a retention time of 4.18 and 17.69 minutes with percent area of 10.53 and 12.10% respectively. The chromatogram peaks were then analyzed using mass spectroscopy. The structure and fragmentation pattern of 9 compounds were identified from ethyl acetate fraction of *F. fragrans* fruit.

Keywords : Antioxidants, *Fagraea fragrans* Roxb., Flavonoids, LC-MS, Phenolics

Citations : 78 (1978-2022)

PENENTUAN KADAR FENOLIK DAN FLAVONOID TOTAL, UJI ANTIOKSIDAN, DAN ANALISIS SENYAWA KIMIA SECARA LC-MS FRAKSI ETIL ASETAT BUAH TEMBESU (*Fagraea fragrans* Roxb.)

Agung Pratama ; dibimbing oleh Drs. Dasril Basir, M. Si. dan Dr. Bambang Yudono, M. Sc.

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya

xviii + 65 halaman, 6 tabel, 27 gambar, 9 lampiran

RINGKASAN

Tembesu (*Fagraea fragrans* Roxb.) merupakan tanaman keras yang banyak ditemukan di daerah Sumatera. Tanaman ini dimanfaatkan secara luas sebagai bahan konstruksi maupun obat tradisional. Beberapa penelitian melaporkan bahwa *F. fragrans* memiliki berbagai aktivitas seperti antioksidan, antikanker, antiinflamasi, dan antimalaria yang menunjukkan adanya senyawa-senyawa aktif yang terkandung pada tanaman ini, seperti fenolik dan flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar fenolik total dan kadar flavonoid total, menguji aktivitas antioksidan, dan mengidentifikasi senyawa dengan LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*). Penelitian diawali dengan memaserasi buah *F. fragrans* menggunakan metanol sebagai pelarut, diikuti fraksinasi menggunakan *n*-heksana dan etil asetat. Fraksi etil asetat kemudian ditentukan kadar fenolik total menggunakan reagen Folin-Ciocalteu, sedangkan kadar flavonoid total ditentukan menggunakan reagen AlCl₃. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) sebagai radikal bebas. Fraksi etil asetat kemudian dianalisis menggunakan LC-MS untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung di dalamnya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat buah *F. fragrans* memiliki kadar fenolik total sebesar 29,34764 mgGAE/g ekstrak, dan kadar flavonoid total sebesar 4,50496 mgQE/g ekstrak. Fraksi etil asetat buah *F. fragrans* memiliki aktivitas antioksidan sedang dengan nilai IC₅₀ sebesar 357,148 mg/L. Fraksi kemudian dianalisis lebih lanjut menggunakan LC-MS, dan diperoleh empat puncak mayor pada waktu retensi 4,18 dan 17,69 menit dengan persen area 10,53 dan 12,10% berturut-turut. Puncak-puncak kromatogram kemudian dianalisis menggunakan spektroskopi massa. Sebanyak 9 senyawa dengan berbagai golongan senyawa berhasil diidentifikasi struktur dan pola fragmentasinya dari fraksi etil asetat buah *F. fragrans*.

Kata Kunci : Antioksidan, *Fagraea fragrans* Roxb., Fenolik, Flavonoid, LC-MS

Kepustakaan : 78 (1978-2022)

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Wahai orang-orang yang beriman, apabila dikatakan kepadamu “berilah kelapangan di dalam majelis-majelis”, maka lapangkanlah. Niscaya Allah akan memberikan kelapangan untukmu. Dan apabila dikatakan “berdirilah kamu”, maka berdirilah. Niscaya Allah akan mengangkat (derajat) orang-orang yang beriman dan berilmu di antara kamu beberapa derajat. Dan Allah Maha Teliti apa yang kamu kerjakan” (Q.S. Al-Mujadilah : 11)

“Barangsiapa yang menghendaki kehidupan dunia maka hendaklah dengan ilmu, barangsiapa yang menginginkan kehidupan akhirat maka hendaklah dengan ilmu, dan barangsiapa yang menghendaki keduanya maka hendaklah dengan ilmu”

(Manaqib Asy-Syafi'i : 2/139)

Skripsi ini sebagai tanda ucapan rasa syukur kepada Allah SWT dan kupersembahkan kepada:

1. Kedua orang tua, Bapak Jumedi dan Ibu Eti Puspita
2. Saudara, Paman, Bibi, kakek dan nenek
3. Pembimbing Tugas Akhir, Bapak Drs. Dasril Basir, M. Si. dan Bapak Dr. Bambang Yudono, M. Sc.
4. Pembimbing Akademik, Bapak Dr. Bambang Yudono, M. Sc.
5. Sahabat-sahabatku
6. Almamater Universitas Sriwijaya.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur hanyalah milik Allah SWT., yang mana berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan kepenulisan skripsi yang berjudul “Penentuan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total, Uji Antioksidan, dan Analisis Senyawa Kimia Secara LC-MS Fraksi Etil Asetat Buah Tembesu (*Fagraea fragrans Roxb.*)”, sehingga penulis dapat memenuhi salah satu persyaratan dalam memperoleh gelar sarjana.

Proses kepenulisan skripsi ini berangkat dari berbagai macam halangan dan rintangan mulai dari kegagalan berkali-kali dalam pengujian di laboratorium, kesulitan dalam mencari literatur, analisis data, hingga pengiriman sampel. Namun, dengan kesabaran dan keuletan yang dilandasi dengan rasa tanggung jawab sebagai mahasiswa dan bantuan dari berbagai pihak, akhirnya penulis mampu menyelesaikan kepenulisan skripsi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih yang tidak terhingga kepada bapak Drs. Dasril Basir, M. Si. dan bapak Dr. Bambang Yudono, M. Sc. yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi yang sangat berarti kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada:

1. Allah SWT atas segala rahmat dan petunjuk-Nya hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Nabi Muhammad SAW yang telah membawa dunia dari kejahilan menuju cahaya terang benderang, khususnya ilmu pengetahuan yang terus berkembang hingga saat ini.
3. Bapak Prof. Hermansyah, Ph. D. selaku Dekan FMIPA Universitas Sriwijaya.
4. Ibu Prof. Dr. Muharni, M. Si. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya.
5. Bapak Dr. Addy Rachmat, M. Si. selaku sekretaris Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya.
6. Bapak Drs. Dasril Basir, M. Si. selaku Pembimbing Tugas Akhir, terima kasih yang sebesar-besarnya atas bimbingan dan ilmunya selama saya mengerjakan penelitian di laboratorium, menulis skripsi, hingga saya bisa sidang sarjana.

7. Bapak Dr. Bambang Yudono, M. Sc. selaku Pembimbing Akademik. Terima kasih atas arahan dan petunjuknya selama proses perkuliahan sampai saya bisa menyelesaikan tugas akhir.
8. Ibu Dr. Eliza, M. Si. dan Ibu Dra. Julinar, M. Si. selaku pembahas/penguji yang telah memberikan masukan dan saran yang sangat bermanfaat bagi penelitian dan skripsi ini.
9. Kepada hibah penelitian kompetitif 2023, LPPM-Universitas Sriwijaya (di bawah supervisor Drs. Dasril Basir, M. Si., Dr. Miksusanti, M. Si., dan Dr. Susilawati, M. Si.).
10. Seluruh dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya yang telah memberikan ilmu, mendidik, dan membimbing selama masa kuliah.
11. Ayah, ibu, adik, dan seluruh keluarga tercinta yang selalu mendoakan dan senantiasa memberikan dukungan.
12. Adik kebanggaan saya di Kimia, Bagus a.k.a. The Traitor, terima kasih sudah menjadi tempat verifikasi/validasi dalam mencari solusi permasalahan hidup. Walaupun kadang mode kekanakannya aktif, sungguh sangat menyebalkan. Semoga kita bisa jadi akademisi bareng ya bro di masa depan, InsyaAllah.
13. Adik andalan saya di Kimia, Annisah Falihei a.k.a. The Stalker, terima kasih banyak dalam membantu saya mencari solusi permasalahan hidup sebelum diverifikasi sama Bagus apakah layak atau tidak. Semoga sukses kedepannya dan tetaplah bisa diandalkan. Pesan dari saya, kurangin ngestalk.
14. Amso, Jono, Kelly, dan Rajes. Terima kasih banyak atas hahahihi-nya selama 8 semester belakangan ini agar tetap enjoy tapi serius dalam kuliah. Semoga sukses bersama di masa depan.
15. The Gangsters Ragil, Della, Siska, Silvana, Dini, Intan, Caca. Saya introvert, saya cenderung pendiam. Kalau sama mereka, ibarat emulsi setetes air dalam minyak. Walaupun kadang-kadang ribut, tapi seru dan menarik berinteraksi sama orang-orang ini. Terima kasih banyak atas huru-haranya, semoga bisa nyusul segera ya.
16. Aditya A., teman yang selalu di posisi netral kalau The Hampers lagi ribut. Terima kasih banyak Dit karena sudah sudi menengahin permasalahan kami. Maaf juga sering ngerepotin dalam urusan desain.

17. Duo maut Lia dan Neneng. Terima kasih atas dukungannya. Menurut saya, mereka berdua adalah orang-orang paling tabah dalam penelitian walaupun harus mengulang berkali-kali, tak terbayang berapa banyak bebas stress yang harus dihadapin apalagi Lia. Jadi, tetap semangat, selalu ada jalan.
18. Teman dark saya, Zenia. Tetap semangat menjalani kehidupan. Saya banyak belajar membaca psikologis seseorang dari Zen, terima kasih juga ilmunya. Tidak usah lagi ribut sama Rahmad ya.
19. Teman-teman dari angkatan 21, Ajeng, Tristan, Dey, Feboy, Auzan, Riyanti dan lain-lain yang tidak bisa disebutkan satu-satu. Tetap semangat berkuliah dan nilainya bagus-bagus ya.
20. Mbak Novi dan Kak Iin, terima kasih banyak atas dedikasinya dalam mengurus berkas-berkas kami yang sangat rumit ini. Terutama Mbak Novi, maaf mbak sering ngerepotin karena banyak masalah di berkas. Beruntung admin-admin Kimia semuanya friendly.
21. Rekan-rekan Kimia angkatan 2019, Meyshin, Sakinah, Anggun, Mayang, Febi, Fitria, Lidia, Maull, Agung B, Rahmad, Joy, dan lain-lain. Semangat mengarungi kehidupan pasca kampus.
22. Rekan-rekan BPH kabinet Konstelasi Cita dan Aurum HIMAKI UNSRI.
23. Semua pihak tertentu yang telah membantu dan memberikan informasi baik secara langsung maupun tidak langsung, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi ini dengan baik.

Semoga bimbingan, ilmu, bantuan, dan masukan yang telah diberikan kepada penulis menjadi amal shaleh dan pahala yang setimpal dari Allah SWT. Dengan kerendahan hati, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan kesalahan, sehingga penulis sangat mengharapkan kritik dan saran dari pembaca. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu kimia di masa depan. Akhir kata, penulis mengucapkan terima kasih.

Indralaya, 31 Maret 2023

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	v
SUMMARY	vi
RINGKASAN	vii
HALAMAN PERSEMBAHAN	viii
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tumbuhan <i>Fagraea fragans</i> Roxb.....	4
2.2 Manfaat Tradisional dan Aktivitas Tumbuhan <i>F. fragrans</i>	5
2.3 Profil Fitokimia Tumbuhan <i>F. fragrans</i>	6
2.4 Ekstraksi Maserasi	8
2.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	9

2.6 Uji Antioksidan	9
2.7 Penentuan <i>Total Flavonoid Content</i> (TFC)	11
2.8 Penentuan <i>Total Phenolic Content</i> (TPC).....	12
2.9 <i>Liquid Chromatography-Mass Spcetrometry</i> (LC-MS).....	12

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan	14
3.2 Alat dan Bahan.....	14
3.2.1 Alat.....	14
3.2.2 Bahan	14
3.3 Prosedur Penelitian	14
3.3.1 Preparasi Sampel.....	14
3.3.2 Ekstraksi.....	15
3.3.2.1 Maserasi Sampel Kering Buah <i>F. fragrans</i>	15
3.3.2.2 Fraksinasi.....	15
3.3.3 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	16
3.3.4 Penentuan <i>Total Phenolic Content</i> (TPC)	16
3.3.4.1 Pembuatan Larutan Induk Asam Galat	16
3.3.4.2 Pembuatan Kurva Standar Asam Galat	16
3.3.4.3 Penentuan Kadar Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Buah <i>F. fragrans</i>	17
3.3.5 Penentuan <i>Total Flavonoid Content</i> (TFC)	17
3.3.5.1 Pembuatan Larutan Induk Kuersetin.....	17
3.3.5.2 Pembuatan Kurva Standar Kuersetin	18
3.3.5.3 Penentuan Kadar Flavonoid Total Fraksi Etil Asetat Buah <i>F. fragrans</i>	18
3.3.6 Uji Antioksidan.....	19

3.3.6.1 Pembuatan Larutan DPPH.....	19
3.3.6.2 Uji Aktivitas Antioksidan Larutan Standar Asam Askorbat.....	19
3.3.6.3 Uji Antioksidan Fraksi Etil Asetat Buah <i>F. fragrans</i>	19
3.3.6.4 Analisis LC-MS.....	20
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Ekstraksi, Fraksinasi, dan Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Buah <i>F. fragrans</i>	21
4.2 Penentuan <i>Total Phenolic Content</i> (TPC) Fraksi Etil Asetat Buah <i>F. fragrans</i>	22
4.3 Penentuan <i>Total Flavonoid Content</i> (TFC) Fraksi Etil Asetat Buah <i>F. fragrans</i>	23
4.4 Uji Aktivitas Antioksidan	24
4.4.1 Aktivitas Antioksidan Standar Asam Askorbat	24
4.4.2 Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Buah <i>F. fragrans</i>	26
4.5 Analisis <i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry</i> (LC-MS) ...	28
4.5.1 <i>Liquid Chromatography</i> (LC)	28
4.5.2 <i>Mass Spectrometry</i> (MS).....	29
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN.....	50

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Morfologi Tumbuhan <i>F. fragrans</i>	5
Gambar 2. Reaksi Penangkapan Radikal DPPH	11
Gambar 3. Pembentukan Kompleks Al(III)-kuersetin	11
Gambar 4. Pola KLT Fraksi Etil Asetat Buah <i>F. fragrans</i>	21
Gambar 5. Kurva Hubungan antara Persen Inhibisi (%) dan konsentrasi (mg/L) Asam Galat.....	26
Gambar 6. Kurva Hubungan antara Persen Inhibisi (%) dan Konsentrasi (mg/L) kuersetin	27
Gambar 7. Kromatogram LC Fraksi Etil Asetat Buah <i>F. fragrans</i>	29
Gambar 8. Spektrum Massa Phlomiol	29
Gambar 9. Pola Fragmentasi Phlomiol	30
Gambar 10. Spektrum Massa Skimmin	31
Gambar 11. Pola Fragmentasi Skimmin	31
Gambar 12. Spektrum Massa Gentiopikrosida	32
Gambar 13. Pola Fragmentasi Gentiopikrosida	33
Gambar 14. Spektrum Massa Swerosida	34
Gambar 15. Pola Fragmentasi Swerosida	34
Gambar 16. Spektrum Massa dietil 4-hidroksi-1-okso-1,4-dihidro-3H-isokromen-3,3-dikarboksilat	35
Gambar 17. Pola Fragmentasi dietil 4-hidroksi-1-okso-1,4-dihidro-3H-isokromen-3,3-dikarboksilat	35
Gambar 18. Spektrum Massa Asam Ferulat	36
Gambar 19. Pola Fragmentasi Asam Ferulat	37
Gambar 20. Spektrum Massa Asam (4-etoksifenoksi) asetat	38
Gambar 21. Pola Fragmentasi Asam (4-etoksifenoksi) asetat	38
Gambar 22. Spektrum Massa Flavonoid Glikosdia	39

Gambar 23. Pola Fragmentasi Flavonoid Glikosida	39
Gambar 24. Spektrum Massa 3(β)-kolest-5-en-3-il 12-[(7-nitro-2,1,3-benzoksadiazol-4-il)amino]dodekanoat	40
Gambar 25. Pola Fragmentasi 3 β)-kolest-5-en-3-il 12-[(7-nitro-2,1,3-benzoksadiazol-4-il)amino]dodekanoat	41
Gambar 26. Kurva Standar Asam Galat.....	60
Gambar 27. Kurva Standar Kuersetin	61

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Data Absorbansi dan Persen Inhibisi Asam Askorbat terhadap DPPH	25
Tabel 2. Data Absorbansi dan Persen Inhibisi Fraksi Etil Asetat terhadap DPPH	27
Tabel 3. Absorbansi Larutan Standar Asam Galat dan Sampel	60
Tabel 4. Absorbansi Larutan Standar Asam Kuersetin dan Sampel	61
Tabel 5. Data <i>Peak Area</i> dan Persen Area	63
Tabel 6. Senyawa-senyawa yang Teridentifikasi Menggunakan MS	64

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Skema kerja Maserasi Buah <i>F. fragrans</i>	51
Lampiran 2. Skema kerja Fraksinasi Buah <i>F. fragrans</i>	52
Lampiran 3. Skema Kerja Penentuan <i>Total Phenolic Content</i> (TPC)	53
Lampiran 4. Skema Kerja Penentuan <i>Total Flavonoid Content</i> (TFC)	55
Lampiran 5. Skema Kerja Pengujian Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat ...	57
Lampiran 6. Penentuan <i>Total Phenolic Content</i> (TPC)	60
Lampiran 7. Penentuan <i>Total Flavonoid Content</i> (TFC)	61
Lampiran 8. Perhitungan Uji Aktivitas Antioksidan.....	62
Lampiran 9. Identifikasi Senyawa dengan LC-MS	63

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Fagraea fragrans Roxb. atau tembesu ialah tanaman kayu keras dari famili *Loganiaceae* yang tersebar di sebagian luas Asia Tenggara (Prastyono dan Haryjanto, 2017). *F. fragrans* dimanfaatkan secara luas oleh masyarakat sebagai bahan bangunan dan furnitur karena kualitas kayunya yang sangat baik. Selain itu, bunga *F. fragrans* juga telah dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai parfum karena memiliki aroma khas (Rustum dan Pramono, 2018). Tanaman ini memiliki buah yang sangat lebat yang dapat dijumpai setiap tahunnya. Oleh karena itu, buah *F. fragrans* dapat dipergunakan dalam skala masif karena memiliki kelimpahan yang besar. Namun, pemanfaatan tanaman *F. fragrans* hanya sebatas bahan konstruksi dan furnitur saja. Padahal *F. fragrans* sangat berpotensi dimanfaatkan sebagai obat maupun fitokosmetik karena kaya akan kandungan senyawa kimia aktif.

Pemanfaatan *F. fragrans* sebagai obat sebenarnya telah dilakukan oleh masyarakat sejak lama seperti obat demam, nyeri sendi, dan asma. Namun, informasi ilmiah *F. fragrans* sebagai obat herbal masih sangat terbatas terutama mengenai kandungan senyawa dan bioaktivitasnya. Beberapa penelitian telah dilakukan dalam rangka eksplorasi senyawa metabolit sekunder pada beberapa bagian tanaman *F. fragrans* seperti, daun, buah, maupun kulit batang. Tanaman ini mengandung beberapa jenis senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, tanin, iridoid, lignan, dan sekoiridoid (Dasril *et al.*, 2020 dan Madmanang *et al.*, 2016). Identifikasi senyawa metabolit sekunder *F. fragrans* pertama kali dilakukan oleh Wan and Chow (1964) dengan menggunakan ekstrak eter daun *F. fragrans* dan dilaporkan mengandung senyawa alkaloid guantianin. Selain itu, ekstrak eter buah *F. fragrans* dilaporkan mengandung senyawa alkaloid berupa gentialutin, gentianin dan isaindigoton (Dasril dkk., 2021), sedangkan ekstrak metanol kulit batang *F. fragrans* mengandung senyawa fagraldehid (Jonville *et al.*, 2008). Meskipun demikian, informasi mengenai kadar flavonoid dan fenolik pada *F. fragrans* beserta aktivitas antioksidannya masih sangat terbatas.

Flavonoid dan fenolik merupakan senyawa fenol yang hampir ditemukan di semua tanaman. Kelompok senyawa ini dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Gugus hidroksil pada senyawa ini dapat memediasi aktivitas antioksidan melalui penangkapan radikal bebas (Kumar and Pandey, 2013). Peran antioksidan sangat penting dalam melindungi sel dari kerusakan oleh radikal bebas. Akumulasi radikal bebas dapat berujung pada penyakit kronis seperti peradangan, kanker, anemia, hingga penyakit kardiovaskular dan jantung (Zehiroglu and Sarikaya, 2019), sehingga menjadi bahan aktif yang sangat penting pada fitokosmetik dan obat-obatan. Oleh karena itu, perlu dilakukan eksplorasi mengenai aktivitas antioksidan dan kandungan flavonoid dan fenolik pada buah *F. fragrans* mengingat besarnya peran senyawa-senyawa polihidroksi seperti flavonoid dan fenolik dalam kemampuan antioksidan, sehingga buah *F. fragrans* dapat dimanfaatkan sebagai fitokosmetik di masa mendatang. Selain itu, belum ada publikasi manapun yang membahas mengenai antioksidan serta kadar fenolik dan flavonoid total, sehingga menambah urgensiitas penelitian ini.

Penelitian ini difokuskan pada bagian buah *F. fragrans* yang didasarkan pada suatu artikel yang ditulis oleh Basir *et al.* (2014), buah *F. fragrans* kaya akan asam ursolat dan oleanolat, suatu senyawa dari golongan triterpenoid dengan berbagai aktivitas farmakologis dan telah lama digunakan sebagai bahan aktif pada kosmetik. Oleh karena itu, bagian buah *F. fragrans* lebih berpotensi jika dilihat dari aspek kandungan kimia di dalamnya, sehingga dipilih sebagai sampel tanaman *F. fragrans* untuk diteliti. Selain itu, penelitian ini lebih difokuskan lagi pada fraksi etil asetat buah *F. fragrans* karena bersifat semi-polar, sehingga senyawa yang dapat diekstrak dari buah *F. fragrans* lebih beragam yang kemudian ditentukan strukturnya dengan LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*).

Berdasarkan uraian di atas, eksplorasi kandungan flavonoid dan fenolik pada buah *F. fragrans* beserta bioaktivitasnya sebagai antioksidan masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi lebih lanjut mengenai kandungan flavonoid dan fenolik yang difokuskan pada fraksi etil asetat buah *F. fragrans*, serta menguji kemampuan antioksidannya. Uji antioksidan dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), lalu dilanjutkan dengan identifikasi senyawa menggunakan LC-MS.

Penelitian ini diharapkan dapat memperkaya informasi ilmiah mengenai kandungan senyawa dan bioaktivitasnya pada tanaman *F. fragrans*, serta memberikan akses bagi pemanfaatan *F. fragrans* sebagai obat maupun fitokosmetik.

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapa kadar flavonoid dan fenolik total pada fraksi etil asetat buah tembesu (*F. fragrans*)?
2. Bagaimana kemampuan antioksidan fraksi etil asetat buah tembesu (*F. fragrans*)?
3. Senyawa apa saja yang terkandung dalam fraksi etil asetat buah tembesu (*F. fragrans*) melalui analisis LC-MS?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui kadar flavonoid dan fenolik total pada fraksi etil asetat buah tembesu (*F. fragrans*).
2. Untuk menguji kemampuan antioksidan fraksi etil asetat buah tembesu (*F. fragrans*).
3. Untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa yang terdapat dalam fraksi etil asetat buah tembesu (*F. fragrans*) menggunakan LC-MS.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memperkaya khazanah ilmiah mengenai buah *F. fragrans* melalui penentuan kadar flavonoid dan fenolik total fraksi etil asetat buah *F. fragrans*, sehingga pemanfaatan *F. fragrans* tidak hanya sebatas bahan bangunan namun juga sebagai fitokosmetik maupun obat farmasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam, M. N., Bristi, N. J. and Rafiquzzaman, M. 2012. Review on *In Vivo* and *In Vitro* Methods Evaluation of Antioxidant Activity. *Saudi Pharmaceutical Journal.* 143-152.
- Al-Hajj, N. Q. M., Wang, H., Gasmalla, M. A. A., Ma, C., Thabit, R., Rahman, M. T. and Tang, Y. 2014. Chemical Composition and Antioxidant Activity of The Essential Oil of *Pulicaria inuloides*. *Journal of Food and Nutrition Research.* 2(5): 221-227.
- Aryal, S., Baniya, M. K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R., and Koirala, N. 2019. Total Phenolic Content, Flavonoid Content and Antioxidant Potential of Wild Vegetables from Western Nepal. *Plants.* 8(96).
- Aswar, Malik, A., Hamidu, L. and Najib, A. 2021. Determination of Total Phenolic Content of Nyirih Stem Bark Extract (*Xylocarpus granatum* J. Koeing) using UV-Vis Spectrophotometry Method. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia.* 8(3): 12-17.
- Atun, S. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktural Senyawa Organik Bahan Alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya.* 8(2): 53–61.
- Basir, D., Harmida, and Julinar. 2020. Secondary Metabolite Profile of *Fagraea fragrans* Fruits Identified with LCMS/MS: TheFruits for Herbal Cosmetic. *AIP Conference Proceedings.* 2243, 020004 (2020).
- Basir, D., Julinar, Agustriana, E., and Untari, B. 2014. Oxidation and Acetylation Of Ursolic and Oleanolic Acids Isolated From *Fagraea fragrans* Fruits: Antiproliferation of P388 Leukemia Cells. *Indo. J. Chem.* 4(3): 269-276.
- Basir, D., Liasta, J., Amelia, A., Miksusanti, and Susilawati. 2022. Oliveramine: An Isolated Alkaloid from *Fagraea fragrans* (Tembesu) Bark. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi.* 25(7): 264-269.
- Basir, D., Miksusanti, Maizur, D. W., and Susilawati. 2021. Alkaloids of *Fagraea fragrans* (Tembesu) Fruits. *Indonesian Journal of Fundamental and Applied Chemistry.* 64-68.
- Bele, A. A and Khale, A. 2011. An Overview on Thin Layer Chromatography *Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2(2): 256-267.
- Bramasto, Y. dan Sudrajat, D. J. 2018. Karakteristik Morfo-Fisiologi Daun, Buah, dan Benih Tembesu (*Fagraea fragrans* Roxb.) dari Lima Populasi di Jawa Bagian Barat dan Sumatera Selatan.
- Cacique, A. P., Barbosa, É., de Pinho, G. P., Silvério, F. O. 2020. Maceration Extraction Conditions for Determining the Phenolic Compounds and the Antioxidant Activity of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Agricultural Sciences.* 44: e017420.

- Chang-Liao, W., -L., Chien, C., -F., Lin, L., -C., and Tsai, T., -H. 2012. Isolation of Gentiopicroside from *Gentianae radix* and its Pharmacokinetics on Liver Ischemia/Reperfusion Rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 141(2): 668-673.
- David, A. V. A. Arulmoli, R., and Parasuraman, S. 2016. Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. *Pharmacognosy Review*. 10(20): 84-89.
- Dewi, Y. S., Lestari, O. A. and Fadly, D. 2020. Identification Phytochemicals and Antioxidant Activities of Various Fractions of Methanol Extracts from Bark of Kulim Tree (*Scorodocarpus borneensis* Becc.). *Sys Rev Pharm*. 11(8): 217-221.
- Doi, K., Kojima, T., Makino, M., Kimura, Y., and Fujimoto, Y. 2001. Studies on the Constituents of the Leaves of *Morus alba* L. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 49(2): 151-153.
- Egarani, G. R., Kasmiyati, S. and Kristiani, E. B. E. 2020. The Antioxidant Content and Activity of Various Plant Organs of Kitolod (*Isotoma longiflora*). *Biosaintifika*. 12(3): 297-303.
- Eghdami, A., Moghaddasi, M. S. and Sadegi, F. 2011. Determination of Antioxidant Activity of Juice and Peel Extract of Three Variety of Pomegranate and Clinical Study. *Advances in Environmental Biology*. 5(8): 2282-2287.
- Fhionnlaoich, N. M., Ibsen, S., Serrano, L. A., Taylor, A., Qi, R., and Guldin, S. 2018. A Toolkit to Quantify Target Compounds in Thin-Layer-Chromatography Experiments. *Journal of Chemical Education*. 95(12): 2191-2196.
- GBIF Secretariat. 2021. GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on <https://www.gbif.org/species/4020051>. (2022-11-20).
- Ghomari, O., Sounni, F., Massoudi, Y., Ghanam, J., Kaitouni, L. B. D., Merzouki, M. and Benlemlih, M. 2019. Phenolic Profile (HPLC-UV) of Olive Leaves According to Extraction Procedure and Assessment of Antibacterial Activity. *Biotechnology Reports*. 23(2019) e00347.
- Hilma, R., Herliani, and Almurdani, M. 2018. Determination of Total Phenolic, Flavonoid Content Andfree Radical Scavenging Activity of Etanol Extract Sawo Stem Bark (*Manilkara Zapota* (L.)). *Conference Proceedings CelSciTech-UMRI*. 3: 62-68.
- Hout, S., Chea, A., Bun, S. -S., Elias, R., Gasquet, M., Timon-David, P., Balansard, G., and Azas, N. 2006. Screening of Selected Indigenous Plants of Cambodia for Antiplasmodial Activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 107(2006): 12-18.
- Husna, F. dan Mita, S. R. 2020. Identifikasi Bahan Kimia Obat Tradisional Stamina Pria dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Farmaka*. 28(2): 16-25.

- Iqbal, P. F., Bhat, A. R., and Azam, A. 2009. Antiamoebic Coumarins from the Root Bark of *Adina cardifolia* and their New Thiosemicarbazone Derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 44(5): 2252-2259.
- Jadid, Nurul, Hidayati, D., Hartanti, S. R., Arraniry, B. A., Rachman, R. Y., and Wikanta, W. 2017. Antioxidant Activities of Different Solvent Extracts of *Piper Retrofractum* Vahl. Using DPPH Assay. *AIP Conference Proceedings*. 1854, 020019 (2017).
- Jessica, A. P. 2022. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bunga Katarak (*Hippobroma longiflora*) Menggunakan Metode DPPH dan FRAP. *Skripsi*. Ogan Ilir: Universitas Sriwijaya.
- Jonville, M., -C., Capel, M., Frédéric, M., Angenot, L., Dive, G., Faure, R., Azas, N., and Ollivier, E. 2008. Fagraldehyde, A Secoiridoid Isolated from *Fagraea fragrans*. *J. Nat. Prod.* 71(12): 2038-2040.
- Kasai, R., Katagiri, M., Ohtani, K., Yamasaki, K., Chong-Ren, Yang, and Tanaka, O. 1994. Iridoid Glycosides from *Phlomis younghusbandii* Roots. *Phytochemistry*. 36(4): 967-970.
- Khalifa, T., El-Gindi, O. D., Ammar, H. A., and El-Naggar, D. M. 2002. Iridoid Glycosides from *Citharexylum quadrangular*. *Asian Journal of Chemistry*. 14(1): 197-202.
- Kedare, S. B. and Singh, R. P. 2011. Genesis and Development of DPPH Method of Antioxidant Assay. *J Food Sci Technol*. 48(4): 412-422.
- Kim, J., -S. and Lee, J., -S. 2020. Correlation between Solid Content and Antioxidant Activities in Umbelliferae Salad Plants. *Prev. Nutr. Food Sci.* 25(1): 84-92.
- Kiyan, H. T., Ozturk, N. and Poyraz, I. E. 2016. Total Phenolic Content and Biological Activities of *Gentiana Pyrenaica* L. *Free Radical Biology and Medicine*. 100(S102).
- Kristinigrum, N., Wulandari, L. and Zuhriyah, A. 2018. Phytochemical Screening, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activity of Water, Ethyl Acetate, and n-Hexane Fractions from Misletoe *Moringa oleifera* Lam. (*Dendrophoe pentandra* (L.) Miq.). *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 11(10): 104-106.
- Kumar, N. and Pruthi, V. 2014. Potential Applications of Ferulic Acid from Natural Resources. *Biotechnology Reports*. 4: 86-93.
- Kumar, S. and Pandey, A. K. 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*. 2013. 1-17.
- Lou, Y., Wu, H., Zheng, J., He, X., Wu, Z., Lu, X., and Qiu, Y. 2019. Determination and Pharmacokinetic Study of Skimmin by UHPLC-MS/MS in Rat Plasma. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 179(2020) 112969.
- Madmanang, S., Cheyeng, N., Heembenmad, S., Mahabusarakam, W., Saising, J., Seeger, M., and Chakthong, S. 2016. Constituents of *Fagraea fragrans* with

- Antimycobacterial Activity in Combination with Erythromycin. *Journal of Natural Products.* 79(4): 767-774.
- Mallavadhani, U. V., Panda, A. K., and Rao, Y. R. 2001. *Diospyros Melanoxyylon Leaves: A Rich Source of Pentacyclic Triterpenes.* *Pharm Biol.* 39(1): 20-24.
- Mangurana, W. O. I., Yusnaini, dan Sahidin. 2019. Analisis LC-MS/MS (*Liquid Chromatography Mass Spectrometry*) dan Metabolit Sekunder serta Potensi Antibakteri Ekstrak n-Heksana Spons *Callyspongia aerizusa* yang diambil pada Kondisi Tutupan Terumbu Karang yang Berbeda di Perairan Teluk Staring. *Jurnal Biologi Tropis.* 19(2): 131-141.
- Mashuni, Yanti, N. A., Jahiding, M., and Edihar, M. 2017. Validation of UV-Vis Spectrophotometric Method for Determination of Bio Oil Total Phenolic Content from Pyrolysis of Cashew Nut Shell. *RJPBCS.* 8(3): 1745-1752.
- Mihailovic, V., Martinovic, N., and Mladenovic, M. 2011. Antioxidant activity and phenolic content of different extracts of *Gentiana cruciata* L. *Planta Medica.* 77(12).
- Mindawati, N., Nurohma, H. S., dan Akhmad, C. 2014. *Tembesu Kayu Raja Andalan.* Bogor: Forda Press.
- Molole, G. J., Gure, A. and Abdissa, N. 2022. Determination of Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of *Commiphora mollis* (Oliv.) Engl. resin. *BMC Chemistry.* 16(48).
- Molyneux, P. 2004. The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicryl- Hydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26(2): 211-219.
- Munteanu, I. G. and Apetrei, C. 2021. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences.* 22(3380).
- Muttakin, Zulfajri, M. and Mariati. 2019. Antioxidant Activity From *Syzygium cumini* (L.) Skeels. *J. Phys.: Conf. Ser.* 1232 012009.
- Nuraini, A., Noriham, A., Zainon, M. N., Saidatul, W. S. K. W., dan Khairusy, S. Z. 2013. Comparative Study of Aqueous and Ethanolic Aromatic Malaysian Herbs Extract Using Four Antioxidant Activity Assays. *International Journal of Agricultural Research.* 8(2): 55-56.
- Nurhasnawati, H., Sundu, R., Sapri, Supriningrum, R., Kuspradini, H., and Arung, E. T. 2019. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of several indigenous species of ferns in East Kalimantan, Indonesia. *Biodiversitas.* 20(2): 576-580.
- Pan, H. 2008. A Non-Covalent Dimer Formed in Electrospray Ionisation Mass Spectrometry Behaving as a Precursor for Fragmentations. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 22(22): 3555-3560.

- Parwata, I. M. O. A. 2016. *Bahan Ajar Antioksidan*. Bukit Jimbaran : Universitas Udayana.
- Pekal, A. and Pyrzynska, K. 2014. Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Anal. Methods*. 7: 1776-1782.
- Pereira, G. A., Arruda, H. S. and Pastore, C. M. 2018. Modification and Validation, of Folin-Ciocalteu Assay for Faster and Safer Analysis of Total Phenolic Content in Food Samples. *Brazilian Journal of Food Research*. 9(1): 125-140.
- Prastyono dan Haryjanto, L. 2017. Estimasi Komponen Varian Semai Tembesu (*Fagraea fragrans* Roxb.) pada Umur 6 Bulan. *Proceeding Biology Education Conference*. 14(1): 42-46.
- Pratima, N. A. and Gadikar, R. 2018. Liquid Chromatographpy-Mass Spectrometry and Its Applications: A Brief Review. *Archives of Organic and Inorganic Chemical Sciences*. 1(1): 26-34.
- Pripdeevech, P. and Saansoomchai, J. 2013. Antibacterial Activity and Chemical Composition of Essential Oil and Various Extracts of *Fagraea fragrans* Roxb. Flowers. *Chiang Mai J. Sci.* 40(2): 214-223.
- Rachmat, A., Julinar, J., Desnelli, D., dan Basir, D. 2020. Produksi Tablet Kosmetika Herbal Buah Tembesu untuk Perawatan Kulit dan Wajah. *Jurnal Pengabdian dan Pemberdayaan Masyarakat*. 4(2): 239-245.
- Rasul, M. G. 2018. Conventional Extraction Methods Use in Medicinal Plants, their Advantages and Disadvantages. *International Journal of Basic Sciences and Applied Computing (IJBSAC)*. 2(6): 10-14.
- Rekha, C., Poornima, G., Manasa, M., Abhipsa, V., Devi, J. P., Kumar, H. T. V. & Kekuda, T. R. P. 2012. Ascorbic Acid, Total Phenol Content And Antioxidant Activity of Fresh Juice of Four Ripe and Unripe Citrus Fruits. Research Article. *Chemical Science Transactions*. 1(2): 303-310.
- Rondon, M., moncayo, S., Cornejo, X. & Plaza, C. 2018. Total Phenolic, Flavonoids Content and Antioxidant Activity of Ethanolic Extracts of Ecuadorian Plants. *Rev Rec Farm*. 60(2): 3-12.
- Rustam, E. dan Pramono, A. A. 2018. Morfologi dan Perkembangan Bunga-Buah *F. fragrans* (*Fagraea fragans*). *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON*. 4(1): 13-19.
- Sari, Y. D., Djannah, S. N dan Nurani, L. H. 2010. Uji Aktvititas Antibakteri Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata L*) Secara In Vitro Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 Serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 1(1): 218–238.
- Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., and Hijji, Y. M. 2021. Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT*. 150 (2021) 111932.

- Shreim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M. and Hijji, Y. M. 2021. Determination of Total Flavonoid Content by Aluminum Chloride Assay: A Critical Evaluation. *LWT-Food Science and Technology*. 150 (2021) 111932.
- e Silva, L. F. R., Lima, E. S., de Vasconcellos, M. C., Costa, D. S., Mustafa, E. V., de Morais, S. K. R., Alecrim, M. d. G. C., Nunomura, S. M., Struwe, L., de Andrade-Neto, V. F., and Pohlit, A. M. 2013. In Vitro and In Vivo Antimalarial Activity and Cytotoxicity of Extracts, Fractions and Substances Isolated from the Amazonian Plant *Tachia grandiflora* (Gentianaceae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 108(4): 501-507.
- Sinurat, J. P., Karo, R. M. B., and Berutu, R. 2022. Determination of Total Flavonoid Content of Saputangan Leaves (*Maniltoa grandiflora* (A. Gray) Scheff) and Its Ability as Antioxidant. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 4(3): 275-279.
- Stefanovic, O., Licina, B. Z., Vasic, S. and Radojevic, I. D. 2018. Bioactive Extracts of *Gentiana asclepiadea*: Antioxidant, Antimicrobial, and Antibiofilm Activity. *Botanica Serbica*. 42(2): 223-229.
- Sukweenadhi, J., Yunita, O., Setiawan, F., Kartini, Siagian, M. T., Danduru, A. P., Avanti, C. 2020. Antioxidant Activity Screening of Seven Indonesian Herbal Extract. *Biodiversitas*. 21(5): 2062-2067.
- Suwartini, L., Yanti, N. and Efrinalia, W. 2021. Optimasi Kondisi Pengujian Senyawa Flavonoid Total di dalam Ekstrak Tanaman Sebagai Pengayaan Bahan Ajar Praktikum Makromolekul dan Hasil Alam di Laboratorium Kimia Organik. *Jurnal Penelitian Sains*. 23(1): 28-35.
- Tsugawa, H., Nakabayashi, R., Mori, T., Yamada, Y., Takahashi, M., Rai, A., Sugiyama, R., Yamamoto, H., Nakaya, T., Yamazaki, M., Kooke, R., Bac-Molenaar, J. A., Oztolan-Erol, N., Keurentjes, J. J. B., Arita, M., and Saito, K. 2019. A cheminformatics Approach to Characterize Metabolomes in Stable-Isotope-Labeled Organisms. *Nature Methods*. 16(4): 295-298.
- Wahyudi, B. E., Salni, and Setiawan, A. 2022. Antioxidant Activity of Tembesu (*Fagraea fragrans* Roxb.) Leaf. *Biovalentia: Biological Research Journal*. 8(2): 96-102.
- Wulandari, L., Retnaningtyas, Y., and Mustafidah, D. 2013. Pengembangan dan Validasi Metode Kromatografi Lapis Tipis Densitometri untuk Penetapan Kadar Teofilin dan Efedrin Hidroklorida secara Simultan pada Sediaan Tablet. *JKTI*. 15(1): 15-21.
- Yagi, A., Okamura, N., Haraguchi, Y., Noda, K., and Nishioka, I. 1978. Studies on the Constituents of *Zizyphi fructus*. II. Structure of new p-coumaroylates of maslinic acid. *Chem. Pharm. Bull.* 26(10): 3075-3079.
- Yang, Y., Wang, Z., Zhang, L., Yin, B., Lv, L., He, J., Chen, Z., Wen, X., Qiao, B., Sun, W., Fang, M., and Zhang, Y. 2018. Protective Effect of Gentropicroside from *Gentiana macrophylla* Pall. in Ethanol-Induced Gastric Mucosal Injury in Mice. *Phytother Res.* 32(2): 259-266.

- Zeb, A. 2020. Concept, Mechanism, and Applications of Phenolic Antioxidants in Foods. *Journal of Food Biochemistry*. 44(9).
- Zehiroglu, C. and Sarikaya, S. B. O. 2019. The Importance of Antioxidants and Place in Today's Scientific and Technology Studies. *J Food Sci Technol*. 56(11): 4757-4774.
- Zhang, J., Li, Y., and Wang, Y. 2020. The Complete Chloroplast Genome Sequence of *Fagraea fragrans*. *Mitochondrial DNA Part B*. 5(1): 711-712.
- Zhang, S., Xin, H., Li, Y., Zhang, D., Shi, J., Yang, J., and Chen, X. 2013. Skimmin, a Coumarin, from *Hydrangea paniculata*, Slows Down the Progression of Membrane Glomerulonephritis by Anti-Inflammatory Effects and Inhibiting Immune Complex Deposition. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.